

Perbaikan Teknik Kultur Embrio Kelapa Kopyor (*Cocos nucifera* L.) Asal Sumenep Jawa Timur Melalui Penambahan Bahan Aditif dan Pengujian Periode Subkultur

Improving Embryo Culture Technique of Kopyor Coconut (*Cocos nucifera* L.) Obtained from Sumenep-East Java through Addition of Additive Agents and Different Periods of Subculture

Sukendah^{1*}, Sudarsono², Witjaksono³, dan Nurul Khumaida²

Diterima 25 September 2007/Disetujui 21 Februari 2008

ABSTRACT

The success of culturing of “Kopyor” coconut (matured coconut with broken meat particles due to abnormal formation of endosperm) through embryo culture depends on the medium used. A revised protocol on medium embryo culture was done to increase embryo germination and plantlet production of kopyor coconut obtained from Sumenep. Embryos excised from mature nuts were cultured in solid Eeuwens basal media supplemented with 150 ml coconut water, 150 ml coconut milk, 50 mg/l thio-urea, and 100 mg/l thio-urea. Germinating embryos were transferred to solid Eeuwens basal media containing 100, 150, and 200 ml/l coconut water. Subsequent transfers of the germinating embryos to fresh media to complete seedling development were done at different periods of subculture, i.e., 1, 2, 3, and 4 months. The highest viability of kopyor embryo was shown by 150 ml/l coconut water, about 95% embryos in this medium germinated. At plantlet phase, addition of coconut water did not give a positive result to the growth of kopyor plantlets. However, coconut water could increase the complete plantlet, i.e., plantlet with shoot and good root. Growth and number of kopyor plantlets obtained were the best when the plantlets transferred into fresh medium every 2 months.

Key words: Embryo culture, kopyor coconut, additive agents, period of subculture

PENDAHULUAN

Perbanyakan kelapa kopyor hanya bisa dilakukan dengan teknik *in vitro* karena ketidakmampuan embrio kelapa kopyor untuk berkecambah yang disebabkan oleh abnormalitas endosperma buah kelapa kopyor. Selama ini buah kelapa kopyor hanya dapat diperoleh dari pohon kelapa berbuah kopyor yang mempunyai konstitusi genetik heterosigot (*Kk*) dan ditumbuhkan dari benih kelapa yang fenotipnya normal, tetapi membawa gen untuk sifat kopyor pada salah satu alel dalam lokus yang mengatur sifat kopyor. Produktivitas buah kelapa kopyor dari pohon jenis ini sangat rendah yaitu antara 2.1-17.5% dari seluruh jumlah kelapa yang dihasilkan, sedangkan pohon kelapa kopyor yang ditanam dari kultur embrio secara potensial dapat menghasilkan buah kelapa kopyor antara 75-100% (Novarianto, 1999; Tahardi, 1997).

Meskipun kultur embrio dapat menghasilkan buah kelapa kopyor dengan persentase 100% per pohon, namun masih banyak kendala yang ditemui dalam

proses pengkulturan embrio kelapa kopyor sehingga persentase keberhasilan dalam memperoleh bibit masih relatif rendah yaitu kurang dari 30% (Mashud, 1999). Protokol untuk kultur embrio kelapa kopyor sampai sekarang masih mengacu pada protokol kelapa “Makapuno” (kelapa kopyor di Filipina) yang dikembangkan oleh Del Rosario and de Guzman (1978) dengan media dasar Eeuwens (1976). Di Indonesia protokol untuk kelapa kopyor telah dikembangkan oleh Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Bogor dengan media dasar MS (Tahardi dan Warga-Dalem, 1982). Masing-masing protokol dikembangkan sesuai dengan ekotipe kelapa yang dikulturkan. Sukendah (2002) telah mengembangkan protokol embrio kelapa kopyor ekotipe Sumenep dan Jember di Jawa Timur dengan memakai media dasar Eeuwens.

Melalui pengujian berbagai protokol bentuk media (padat dan cair) selama dua tahun (dua kali periode pengujian), ternyata embrio kelapa kopyor asal Sumenep hanya bisa tumbuh baik pada serangkaian media Eeuwens padat (fase perkecambahan; fase

¹ Staf Pengajar Agronomi, Fak. Pertanian UPN “Veteran” Jawa Timur, Surabaya
Jl. Raya Rungkut Madya Gunung Anyar, Surabaya 60294, Email: kendah1@yahoo.com
Telp. : (031)8783189, 0817370796, Fax.: (031) 8706372 (*penulis untuk korespondensi)

² Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB, Bogor

³ Pusat Penelitian Biologi LIPI, Cibinong

pertumbuhan planlet; fase penguatan planlet) dengan persentase perolehan planlet sekitar 40% (Sukendah, 2005). Embrio kelapa kopyor asal Sumenep sulit berkecambah pada media cair, baik pada media dasar Eeuwens maupun MS, tidak seperti embrio kelapa "Makapuno" yang bisa berkecambah dengan baik pada media Eeuwens cair.

Secara potensial dengan pemakaian protokol media yang dimodifikasi tersebut perolehan planlet kelapa kopyor asal Sumenep masih bisa ditingkatkan sekitar 40 % jika jumlah planlet yang pertumbuhannya lambat, stagnan atau *browning* dapat diturunkan. Kehilangan planlet karena hal ini bisa mencapai 30%. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Sukendah dan Rachmat (2003) menunjukkan bahwa dari berbagai bahan aditif yang diuji (sari tauge dan tomat, air kelapa, dan ekstrak ragi) hanya air kelapa yang dapat meningkatkan persentase perkecambahan dan mempercepat pertumbuhan planlet kelapa kopyor. Oleh sebab itu perlu dicari bahan aditif lainnya yang kemungkinan dapat meningkatkan dan mempercepat perkecambahan embrio kelapa kopyor selain air kelapa. Lebih lanjut untuk mempercepat pertumbuhan planlet kelapa kopyor masih perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang konsentrasi optimum air kelapa yang dipakai. Selain itu untuk menekan jumlah planlet yang stagnan bisa dicoba dengan melakukan subkultur lebih sering lagi. Pada protokol sebelumnya subkultur dilakukan sebanyak 2-3 kali dengan periode subkultur 3-4 bulan.

Penelitian berikut ini bertujuan untuk memperbaiki teknik kultur embrio asal Sumenep dengan menambahkan berbagai bahan aditif yang potensial meningkatkan perkecambahan embrio kelapa kopyor, dan menguji konsentrasi air kelapa serta frekuensi periode subkultur untuk meningkatkan pertumbuhan planlet kelapa kopyor asal Sumenep.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Agronomi UPN "Veteran" Jawa Timur untuk kegiatan pengambilan embrio dari buah kelapa kopyor dan penanaman embrio ke dalam media perkecambahan, sedangkan untuk proses perkecambahan dan pertumbuhan planlet dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Dept. Agronomi dan Hortikultura IPB Bogor. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Agustus 2006 sampai Juni 2007.

Sterilisasi dan Penanaman Embrio

Buah kelapa kopyor umur 11 bulan diambil dari kebun petani yang mempunyai pohon kelapa berbuah kopyor di daerah Sumenep yang sudah diketahui

sejarah kebunnya. Buah kelapa kopyor dibelah secara horizontal dan diambil bagian endosperma yang berisi embrio dengan alat *cork borer* (diameter 2 cm). Endosperma yang mengandung embrio dikumpulkan di tabung gelas steril yang berisi akuades steril dan dibawa ke Laboratorium Bioteknologi Agronomi UPN "Veteran" Jatim.

Endosperma yang berisi embrio disterilisasi dengan Natrium hipoklorit (NaClO) 1% selama 20 menit dan dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Selanjutnya di dalam *Laminair Air Flow Cabinet* embrio dikeluarkan dari endosperma dan dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml, masing-masing erlenmeyer diisi 50 embrio. Embrio kemudian disterilisasi dengan 0.5% NaClO selama 5 menit sebanyak 2 kali dan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Embrio ditanam pada tabung reaksi yang berisi media Eeuwens padat 10 ml, arang aktif 2.5 g/l, sukrosa 60 g/l dengan pH media 5.8 sebelum disterilisasi. Satu tabung ditanam satu embrio. Tabung reaksi kemudian ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan dalam *cooler box* steril untuk dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler Dept. Agronomi dan Hortikultura IPB Bogor.

Percobaan 1. Perkecambahan Embrio Kelapa Kopyor pada Berbagai Bahan Aditif

Percobaan dirancang dengan faktor tunggal (bahan aditif) dengan 4 perlakuan (air kelapa 150 ml/l, air santan 150 ml/l, thio-urea 50 mg/l, dan thio-urea 100 mg/l). Setiap perlakuan diulang 3 kali dengan 25 sampel per perlakuan, sehingga ada 300 satuan percobaan. Embrio yang telah ditanam pada tabung reaksi sesuai dengan perlakuan masing-masing diletakkan dalam rak kultur menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam kondisi gelap dengan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Proses perkecambahan ditandai dengan munculnya bakal tunas dan/atau bakal akar. Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase daya kecambah embrio, persentase embrio *browning* dan waktu yang dibutuhkan embrio berkecambah.

Percobaan 2. Pertumbuhan Planlet Kelapa Kopyor pada Berbagai Konsentrasi Air Kelapa dan Periode Subkultur

Embrio kelapa kopyor yang telah berkecambah selanjutnya dipindah ke media pertumbuhan planlet, yaitu media Eeuwens padat 40 ml yang mengandung sukrosa 60 g/l dan arang aktif 2.5 g/l. Ke dalam media ditambahkan air kelapa dengan berbagai konsentrasi: 0 ml/l, 100 ml/l, 150 ml/l, 200 ml/l. Planlet disubkultur sesuai dengan perlakuan periode subkultur yaitu 1 bulan, 2 bulan, 3 bulan, dan 4 bulan sekali. Selanjutnya masing-masing perlakuan kombinasi (konsentrasi air kelapa dan periode subkultur) diulang 3 kali dengan 5 sampel per perlakuan. Planlet diletakkan pada rak kultur menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan

kondisi lama penyinaran 9 jam dan suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Evaluasi perlakuan dilakukan dengan mengamati tinggi planlet, jumlah dan lebar daun, % planlet browning, % planlet dengan pertumbuhan akar yang sempurna, dan % planlet dengan pertumbuhan akar belum sempurna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fase Perkecambahan

Perkecambahan embrio kelapa kopyor asal Sumenep pada media padat Eeuwens yang mengandung berbagai macam bahan aditif seperti air kelapa, air santan dan thio-urea ditandai dengan membesarnya embrio sampai keluarnya tonjolan bakal akar primer dan bakal primordium daun ke arah lateral (Gambar 1A). Rata-rata embrio kelapa kopyor membutuhkan waktu untuk berkecambah antara 1-1.5 bulan (Tabel 1). Embrio yang dikulturkan pada media dengan air kelapa 150 ml/l lebih cepat berkecambah, yaitu kurang dari satu bulan (29 hari) dan nyata berbeda dengan media tanpa bahan aditif. Embrio pada media thio-urea 50 mg/l juga berkecambah relatif cepat (satu bulan), yang tidak berbeda nyata dengan media air kelapa 150 ml/l.

Waktu yang dibutuhkan oleh embrio pada media air santan untuk berkecambah lebih lama daripada embrio pada media air kelapa namun masih lebih cepat daripada embrio pada media tanpa bahan aditif (Tabel 1). Embrio pada media thio-urea 100 mg/l membutuhkan waktu untuk berkecambah nyata lebih lama dibandingkan dengan media air kelapa 150 ml/l atau thio-urea 50 mg/l. Bahkan 3 hari lebih lama dibandingkan dengan media tanpa bahan aditif, meskipun kedua media tersebut tidak berbeda nyata.

Daya kecambah embrio kelapa kopyor pada media dengan bahan aditif atau tanpa bahan aditif berbeda nyata. Rata-rata daya kecambah embrio kelapa kopyor adalah sama atau lebih besar dari 75%, kecuali embrio pada media thio-urea 100 mg/l, yang hanya mempunyai daya kecambah sebesar 59% (Tabel 1). Media dengan bahan aditif air kelapa 150 ml/l tampaknya yang paling cocok untuk perkecambahan embrio kelapa kopyor dengan besar daya kecambah mencapai 95%. Media yang mengandung air santan 150 ml/l, thio-urea 50 mg/l, dan thio-urea 100 mg/l menghasilkan embrio dengan daya kecambah yang tidak berbeda nyata dengan embrio yang dikulturkan pada media tanpa bahan aditif (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh berbagai macam bahan aditif pada daya kecambah dan waktu yang dibutuhkan embrio kelapa kopyor asal Sumenep untuk berkecambah

Bahan aditif	Daya kecambah (%)	Waktu untuk berkecambah (hari)
Tanpa bahan aditif	74.0b*	45.0a
Air kelapa 150 ml/l	95.0a	29.0b
Air santan 150 ml/l	76.5ab	39.0ab
Thio-urea 50 mg/l	75.0b	30.0b
Thio-urea 100 mg/l	59.0b	47.0a

*Angka rata-rata dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Duncan (DMRT) 5%

Diantara bahan aditif yang dicoba, hanya air kelapa 150 ml/l yang memberikan pengaruh baik untuk meningkatkan perkecambahan embrio kelapa kopyor asal Sumenep dengan waktu berkecambah lebih cepat. Embrio kelapa kopyor pada umumnya rata-rata membutuhkan waktu berkecambah sekitar 6 sampai 8 minggu (Miftahorrachman *et al.*, 1991; Sukendah *et al.*, 2006), dengan penambahan air kelapa 150 ml/l waktu berkecambah dipercepat sekitar 1-2 minggu. Daya kecambah embrio kelapa kopyor pada media air kelapa 150 ml/l pada penelitian ini jauh lebih baik dibandingkan daya kecambah embrio kelapa kopyor pada media penelitian sebelumnya dengan bahan aditif seperti sari tauge, sari buah tomat, dan ekstrak ragi (Sukendah dan Rachmat, 2003) atau daya kecambah embrio kelapa kopyor pada media tanpa bahan aditif di berbagai laboratorium di Filipina yang berkisar antara 50-78% (Rillo, 1997). Disamping itu embrio yang dikecambahkan pada media dengan air kelapa 150 ml/l

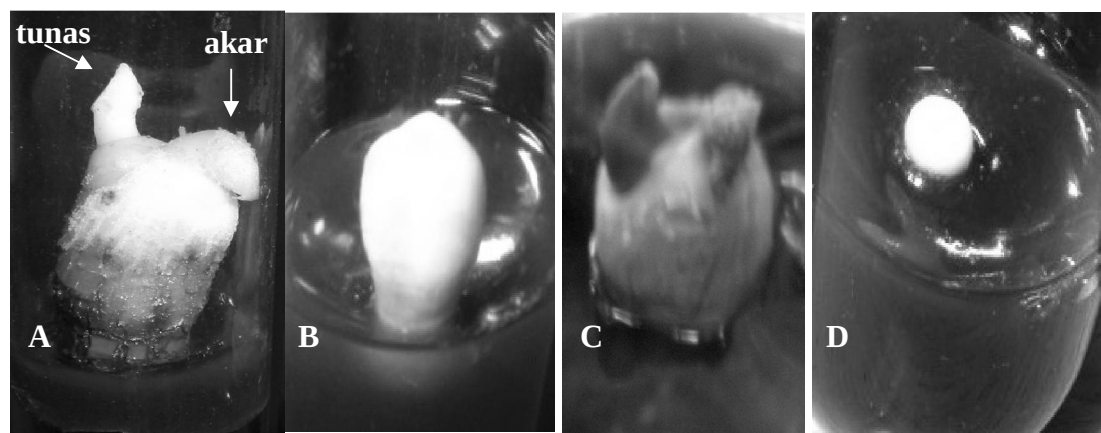
tidak mengalami *browning* yang dapat menyebabkan kematian pada embrio (Gambar 2). Dengan demikian air kelapa terbukti merupakan bahan aditif yang paling cocok untuk proses perkecambahan embrio kelapa kopyor.

Daya kecambah embrio kelapa kopyor di media tanpa bahan aditif atau media dengan penambahan thio-urea 100 mg/l rata-rata masih dibawah 75%. Sekitar 25% dari embrio kelapa kopyor tidak mampu berkecambah. Ada berbagai bentuk respon embrio setelah embrio dikulturkan pada media dengan penambahan bahan aditif atau tanpa bahan aditif, 1) embrio segera membesar dan berkecambah (Gambar 1A) seperti yang terjadi pada media dengan air kelapa 150 ml/l atau pada thio-urea 50 mg/l, 2) embrio membesar tetapi tidak menunjukkan kemajuan pertumbuhan ke arah perkecambahan (Gambar 1B). Kemungkinan embrio masih bisa berkecambah jika diberi perlakuan khusus, seperti penambahan zat

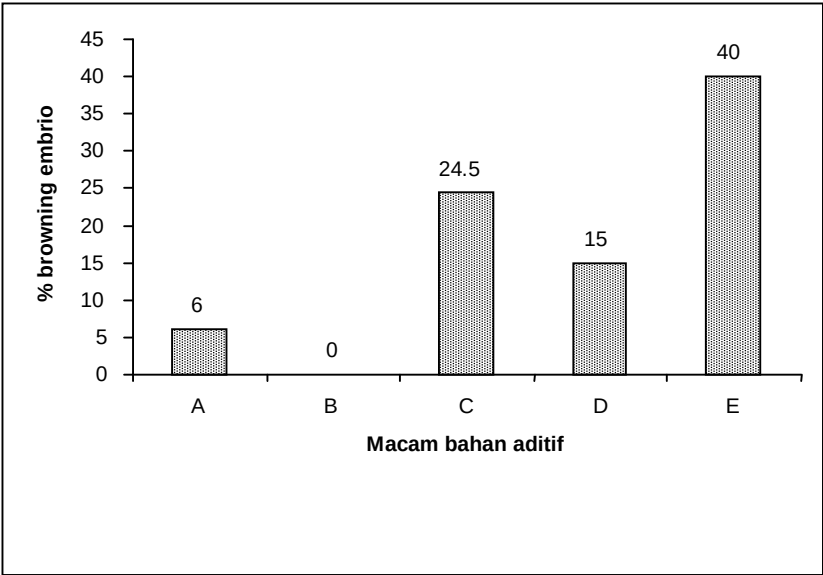
pengatur tumbuh dan dipindah ke media baru. Nurita-Toruan (1978) menambahkan IAA 10 ppm untuk mengatasi embrio kelapa yang sulit berkecambah, 3) embrio membesar kemudian embrio mengalami *browning/blackening* (pencoklatan) dan akhirnya embrio mati (Gambar 1C), 4) embrio tidak menunjukkan respon apapun, kemungkinan embrio kehilangan daya tumbuh (Gambar 1D).

Ketidakmampuan embrio untuk berkecambah dapat disebabkan oleh embrio yang tidak mempunyai daya regenerasi lagi atau embrio mengalami *browning*. *Browning* embrio banyak terjadi pada media dengan

penambahan thio-urea 100 mg/l atau air santan (Gambar 2). Rata-rata *browning* embrio yang terjadi pada media tersebut berkisar antara 24.5% (air santan) sampai 40% (thio-urea 100 mg/l). *Browning* merupakan salah satu kendala utama pada pengkulturan jaringan secara *in vitro*. *Browning* terjadi apabila jaringan tanaman mengeluarkan senyawa fenolik ke media dan teroksidasi. Senyawa ini bisa menghambat aktivitas enzim dan mengakibatkan pencoklatan media dan eksplan yang berakibat kematian jaringan (Laukkanen *et al.*, 1999).



Gambar 1. Embrio kelapa kopyor asal Sumenep pada fase perkecambahan. A. Embrio yang berkecambah tumbuh bakal tunas dan akar, B. Embrio yang hanya membesar tetapi tidak menunjukkan pertumbuhan ke arah perkecambahan, C. Embrio yang sudah berkecambah tiba-tiba mengalami *browning*, D. Embrio yang kehilangan daya tumbuh, tidak bisa berkecambah.



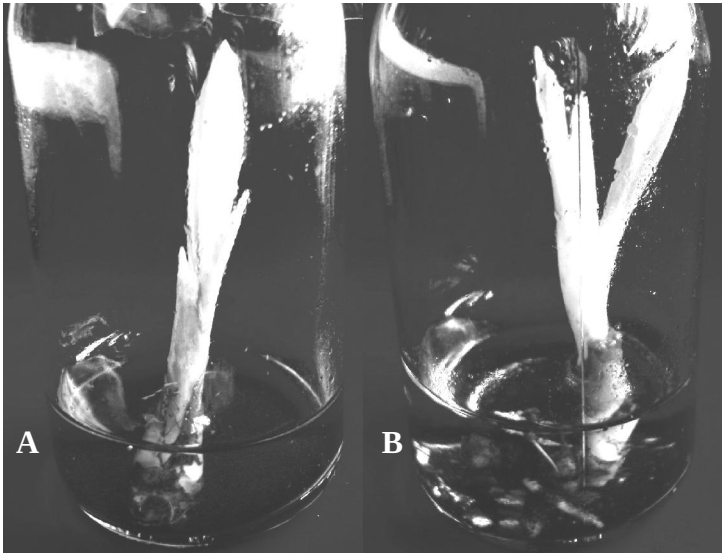
A= tanpa bahan aditif B= air kelapa 150 ml/l C= air santan 150 ml/l D= thio-urea 50 mg/l E= thio-urea 100 mg/l

Gambar 2. Persentase embrio kelapa kopyor yang mengalami *browning* pada fase perkecambahan di berbagai media tanpa bahan aditif dan dengan bahan aditif air kelapa 150 ml/l, air santan 150 ml/l, thio-urea 50 mg/l dan thio-urea 100 mg/l.

Fase Pertumbuhan Planlet

Pertumbuhan planlet kelapa kopyor dievaluasi melalui pengukuran panjang planlet dan lebar daun, penghitungan jumlah daun, serta persentase planlet yang dihasilkan. Tidak ada interaksi yang nyata antara periode subkultur dengan konsentrasi air kelapa pada pertumbuhan planlet kelapa kopyor. Pertumbuhan planlet kelapa kopyor lebih dipengaruhi oleh periode subkultur atau konsentrasi air kelapa secara sendiri-sendiri. Dengan melihat pertumbuhan panjang planlet dan lebar daun umur 5 bulan, maka periode subkultur 2 bulan lebih baik untuk pertumbuhan planlet kelapa kopyor daripada periode subkultur lainnya (Tabel 2). Panjang planlet dan lebar daun pada media yang diganti setiap 2 bulan sekali nyata lebih panjang dan lebih lebar daripada planlet pada periode subkultur lainnya.

Persentase total planlet yang dihasilkan pada periode subkultur 2 bulan sekali setelah 8 bulan dalam proses pengkulturan juga cukup tinggi. Planlet yang diperoleh sebesar 77.28% yang terdiri dari 45% adalah planlet dengan pertumbuhan akar yang baik (Gambar 3B), sedangkan 31.82% adalah planlet dengan pertumbuhan akar yang belum berkembang sempurna (Gambar 3A). Walaupun demikian, jika persentase total planlet yang dijadikan bahan pertimbangan, maka periode subkultur 3 bulan dapat menjadi alternatif berapa lama planlet harus disubkultur. Persentase total planlet yang dihasilkan 3% lebih tinggi daripada periode subkultur 2 bulan (Tabel 3). Sebaliknya kultur yang terlalu sering dipindah ke media yang baru (subkultur 1 bulan sekali) atau terlalu lama dipindah (subkultur 4 bulan sekali) justru menghasilkan total planlet lebih sedikit.



Gambar 3. Planlet dengan akar yang belum berkembang sempurna (A) dan planlet dengan akar yang berkembang dengan baik (B).

Tabel 2. Pertumbuhan planlet kelapa kopyor asal Sumenep setelah umur 5 bulan pada berbagai periode subkultur dan pada media Eeuwens yang mengandung berbagai konsentrasi air kelapa

Perlakuan	Panjang planlet (cm)	Σ Daun	Lebar daun (cm)
<u>Periode subkultur:</u>			
1 bulan	2.26b*	1.25a	0.24b
2 bulan	3.28a	1.63a	0.51a
3 bulan	1.90b	1.63a	0.34ab
4 bulan	1.70b	1.38a	0.26b
<u>Konsentrasi air kelapa:</u>			
100 ml/l	2.17ab*	1.50a	0.30a
150 ml/l	2.70a	1.63a	0.45a
200 ml/l	1.66b	1.25a	0.27a
Tanpa air kelapa	2.60a	1.50a	0.34a

*Angka rata-rata dalam kolom yang sama pada masing-masing perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Duncan (DMRT) 5%

Tabel 3. Persentase planlet kelapa kopyor asal Sumenep yang diperoleh pada berbagai periode subkultur dan pada media Eeuwens yang mengandung berbagai konsentrasi air kelapa setelah 8 bulan dalam proses pengkulturan

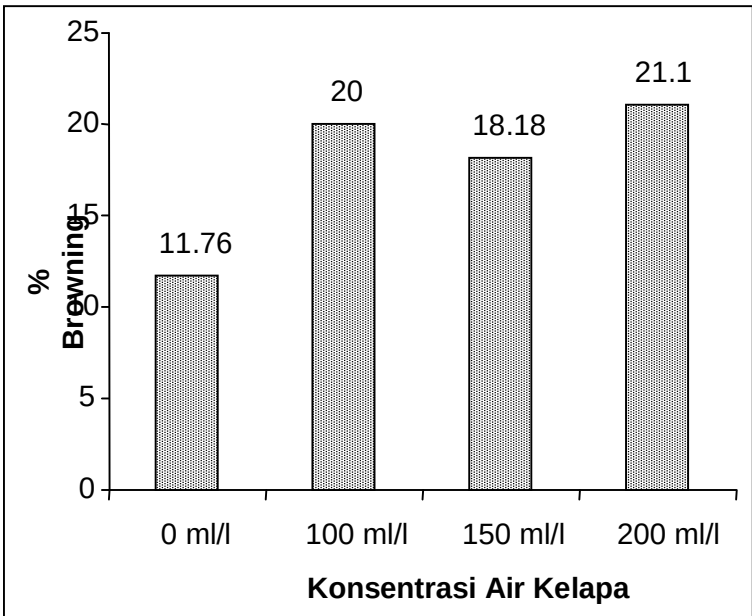
Perlakuan	% planlet yang belum berkembang akarnya	% planlet dengan perkembangan akar yang baik	% total planlet yang diperoleh
<u>Periode subkultur:</u>			
1 bulan	25.00	35.00	60.00
2 bulan	31.82	45.46	77.28
3 bulan	33.33	47.62	80.95
4 bulan	20.00	25.00	45.00
<u>Konsentrasi air kelapa:</u>			
100 ml/l	25.00	45.00	70.00
150 ml/l	36.34	40.90	77.24
200 ml/l	5.88	41.18	47.06
Tanpa air kelapa	42.86	33.33	76.19

Protokol kultur embrio untuk kelapa dari UPLB (Filipina), ORSTOM (Perancis) dan CPRI (India) rata-rata melakukan subkultur untuk pertumbuhan planlet setiap 4 minggu (1 bulan) atau 6 minggu (1.5 bulan). Pada penelitian ini periode subkultur yang paling baik antara 2-3 bulan. Ini berarti frekuensi subkultur dapat dikurangi tanpa mengakibatkan pengaruh negatif pada pertumbuhan planlet kelapa kopyor, bahkan dengan subkultur 2 bulan pertumbuhan planlet dan jumlah planlet yang diperoleh lebih baik daripada periode subkultur 1 bulan sekali. Periode subkultur untuk protokol sebelumnya yang dikembangkan oleh Sukendah (2002) adalah 3-4 bulan sekali. Tampaknya untuk embrio asal Sumenep membutuhkan periode subkultur agak lebih sering untuk mempercepat pertumbuhan dan meningkatkan perolehan planlet kelapa kopyor.

Air kelapa tidak banyak memberi peningkatan pertumbuhan planlet kelapa kopyor asal Sumenep. Pertumbuhan planlet seperti jumlah dan lebar daun pada berbagai media air kelapa 100, 150, dan 200 ml/l serta media tanpa air kelapa tidak berbeda nyata (Tabel 2). Media dengan air kelapa 200 ml/l justru menghasilkan panjang planlet nyata lebih pendek daripada media tanpa air kelapa. Meskipun begitu, penambahan air kelapa 150 ml/l menghasilkan persentase planlet dengan perkembangan akar yang baik lebih tinggi dan total planlet yang diperoleh lebih banyak daripada media tanpa air kelapa (Tabel 3). Hal yang menarik adalah air kelapa meningkatkan persentase pembentukan planlet dengan perkembangan akar yang sempurna yaitu planlet dengan akar primer dan sekunder (Tabel 3 dan Gambar 3B). Planlet-planlet seperti ini biasanya dapat langsung diaklimatisasi tanpa melewati masa penguatan akar untuk menginduksi akar-akar lateral/sekunder pada planlet yang belum sempurna akarnya. Rata-rata media

dengan air kelapa menghasilkan planlet yang sempurna perkembangan akarnya lebih tinggi daripada media tanpa air kelapa (Tabel 3). Kemungkinan karena komposisi air kelapa mengandung beberapa hormon seperti auksin, sitokinin dan giberelin. Air kelapa juga mengandung bahan organik gula dan vitamin; asam amino termasuk asam glutamat, asparagin, prolin, dan glisin; serta bahan anorganik seperti fosfat (P), magnesium (Mg), dan kalium (K) (Raghavan, 1977). Menurut Unagul *et al.* (2007), air kelapa mengandung monosakarida dengan kandungan gula setara dengan 60 g/l dan sejumlah vitamin untuk menunjang pertumbuhan biomasa rumput laut secara *in vitro*. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan air kelapa pada media dapat meningkatkan pertumbuhan planlet, seperti pada planlet kapulaga dengan penambahan air kelapa 50-200 ml/l (Tefera and Wannakrairoj, 2004), planlet kiwi dengan penambahan air kelapa 100 ml/l (Boase and Wright, 1993).

Namun di lain pihak air kelapa juga cenderung menghasilkan persentase *browning* planlet yang lebih besar daripada media tanpa air kelapa (Gambar 4). *Browning* planlet pada media air kelapa meningkat sekitar 7-10% dibandingkan dengan media tanpa air kelapa. Umumnya pada sistem kultur jaringan senyawa fenolik, terutama senyawa fenolik yang teroksidasi berakibat buruk pada jaringan yang ditanam, yaitu eksplan yang mati akibat *browning* (Arnaldos *et al.*, 2001; Laukkanen *et al.*, 1999). Konsentrasi senyawa fenolik ini dapat dipengaruhi oleh beberapa bahan organik, terutama karbohidrat yang ditambahkan pada media (Lux-Endrich *et al.*, 2000). Penambahan air kelapa ke dalam media akan meningkatkan kandungan karbohidrat pada media sehingga kemungkinan konsentrasi senyawa fenolik meningkat dan mengakibatkan eksplan rentan terhadap *browning*.



Gambar 4. Persentase planlet kelapa kopyor yang mengalami *browning* pada fase pertumbuhan di berbagai media tanpa air kelapa dan dengan air kelapa konsentrasi 100 ml/l, 150 ml/l, dan 200 ml/l.

KESIMPULAN

Secara keseluruhan untuk perbaikan teknik kultur embrio kelapa kopyor asal Sumenep adalah pada fase perkecambahan sebaiknya ditambahkan air kelapa 150 ml/l untuk meningkatkan daya kecambah dan mempercepat perkecambahan embrio. Pada fase pertumbuhan planlet tidak perlu ditambahkan bahan aditif, kecuali jika ingin memperoleh lebih banyak planlet dengan perkembangan akar yang baik, maka pemakaian air kelapa 150 ml/l dapat dipertimbangkan. Periode subkultur yang bisa dipakai untuk meningkatkan pertumbuhan planlet kelapa kopyor adalah 2 bulan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Sebagian dari penelitian ini didanai oleh Proyek Penelitian Hibah Bersaing Angkatan XIV/2 Tahap III TA. 2006 Direktorat P2M Ditjen Dikti dengan judul: Perakitan Bibit Kelapa Kopyor ”True-to-type” Melalui Kultur Embrio Generatif dan Vegetatif, No. Kontrak: 207/SP2H/PP/DP2M/III/2006.

DAFTAR PUSTAKA

Arnaldos, T.L., R. Munoz, M.A. Ferrer, A.A. Calderon. 2001. Changes in phenol content during strawberry (*Fragaria xananassa*, cv. Chandler) callus culture. *Physiol. Plant.* 113:315-322.

Boase, M.R., S. Wright. 1993. Coconut milk enhancement of axillary shoot growth *in vitro* of kiwifruit. *New Zealand J. of Crop and Hort. Sci.* 21:171-176.

Del Rosario, A.G., E.V. de Guzman. 1978. The growth of coconut Makapuno embryos *in vitro* as affected by mineral composition and sugar level of the medium during liquid and solid cultures. *Philip. J. Sci.* 105(10):215-222.

Eeuwens, C.J. 1976. Mineral requirements of cultural coconut tissue. *Physiol. Plant.* 36:23-24.

Laukkanen, H., H. Haggman, S. Kontunen-Soppela, A. Hohtola. 1999. Tissue browning of *in vitro* cultures of Scots pine: Role of peroxidase and polyphenol oxidase. *Physiol. Plant.* 106:337-343.

Lux-Endrich, A., D.Treutter, W Feucht. 2000. Influence of nutrients and carbohydrate supply on the phenol composition of apple shoot cultures. *Plant cell, Tissue and Organ Cult.* 60: 15-21.

Mashud, N. 1999. Penerapan kultur jaringan pada tanaman kelapa. Makalah Simposium Hasil Penelitian Tanaman Kelapa dan Palma Lain. BALITKA. Menado.

Miftahorrachman, D.S., Pandin, T. Rompas. 1991. Pertumbuhan embrio kelapa pada media Eeuwens yang dimodifikasi. *Buletin Balitka* 14(5): 114-124.

- Novarianto, H. 1999. Perbanyak dan perbaikan genetik kelapa kopyor. Laporan Bulanan Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Mei 1999. hal. 6-12.
- Nurita-Toruan. 1978. Pertumbuhan dan perkembangan embrio kelapa (*Cocos nucifera* L.) dalam kultur aseptik. Menara Perkebunan. 46(5): 213-217.
- Raghavan, V. 1977. Diets and culture media for plant embryos. *In*: Miloslav Rechcigl. CRC Handbook Series in Nutrition and Food. p. 361-413.
- Rillo, E.P. 1997. PCA's embryo culture technique in the mass production of Makapuno coconuts. *In*: P.A. Batugal, F. Engelmann (eds.). Proceeding of the First Workshop on Embryo Culture, 27-31 October 1997. Albay. Philippines.
- Sukendah. 2002. Pengembangan protokol media untuk kultur embrio kelapa kopyor (*Cocos nucifera* L.) di Jawa Timur. Jurnal Pertanian Mapeta 4 (13): 38-42.
- Sukendah, A. Rachmat. 2003. Pengujian bahan aditif pada media kultur embrio kelapa kopyor (*Cocos nucifera* L.). Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Pertanian. 3 (1):1-5.
- Sukendah. 2005. Optimasi protokol media untuk kultur embrio kelapa kopyor. Jurnal Pertanian Mapeta. 7(2): 107-112.
- Sukendah, I.N. Djajanegara, N.F. Rahmat. 2006. Keeratan hubungan antara kualitas sumber eksplan dengan perkecambahan dan pertumbuhan embrio zigotik kelapa kopyor. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian AgrUMY. 14(2): (12):95-105.
- Tahardi, J.S., K. Warga-Dalem. 1982. Kultur embrio kelapa kopyor *in vitro*. Menara Perkebunan 50 (5): 127 – 130.
- Tahardi, J.S. 1997. Kelapa kopyor sebagai komoditi alternatif agribisnis. Warta Puslit Biotek Perkebunan. Bogor. Hal. 16-21.
- Tefera, W., S. Wannakrairoj. 2004. A micro-propagation method for korarima (*Aframomum corrorima* [Braun] Jansen). ScienceAsia 30:1-7.
- Unagul, P., C. Assantachai, S. Phadungruengluij, M. Suphantharika, M. Tanticharoen, C. Verduyn. 2007. Coconut water as a medium additive for the production of docosaheaxaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02. Bioresource Tech. 98: 281-287.